



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

CENTRO DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

LARISSA DA MATA OLIVEIRA PRADO

**PREFERÊNCIA DE COR E BRILHO EM SUBSTRATO PELO PEIXE
ELÉTRICO SUL-AMERICANO ITUÍ-CAVALO (*Apteronotus albifrons*)**



NATAL

2018

LARISSA DA MATA OLIVEIRA PRADO

**PREFERÊNCIA DE COR E BRILHO EM SUBSTRATO PELO PEIXE
ELÉTRICO SUL-AMERICANO ITUÍ-CAVALO (*Apteronotus albifrons*)**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Psicobiologia da
Universidade Federal do Rio Grande do
Norte, como requisito para a obtenção do
título de Mestre em Psicobiologia

Orientador:

Prof. Daniel Marques de Almeida Pessoa

Coorientadora:

Prof^ª. Ana Carolina Luchiari

NATAL

2018

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Leopoldo Nelson - -Centro de Biociências - CB

Prado, Larissa da Mata Oliveira.

Preferência de cor e brilho em substrato pelo peixe elétrico Sul-Americano Ituú-Cavalo (*Apteronotus albifrons*) / Larissa da Mata Oliveira Prado. - Natal, 2018.

36 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Marques de Almeida Pessoa.

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Luchiari.

1. Visão de cores - Dissertação. 2. Preferência de substrato - Dissertação. 3. Gymnotiforme - Dissertação. 4. Modelagem visual - Dissertação. I. Pessoa, Daniel Marques de Almeida. II. Luchiari, Ana Carolina. III. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. IV. Título.

LARISSA DA MATA OLIVEIRA PRADO

**PREFERÊNCIA DE COR E BRILHO EM SUBSTRATO PELO PEIXE
ELÉTRICO SUL-AMERICANO ITUÍ-CAVALO (*Apteronotus albifrons*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Psicobiologia.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof^ª. Maria de Fátima Arruda

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Dr. Andre Carreira Bruinjé

Universidade de São Paulo - USP

Prof. Daniel Marques de Almeida Pessoa

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Professor orientador – presidente da banca examinadora

Natal, 27 de setembro de 2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, dedico essa dissertação ao meu pai, que faleceu durante meu curso de mestrado, mas que esteve presente como inspiração para que eu persistisse e enfrentasse todas as adversidades sem perder o bom humor. Agradeço-o por ter me envolvido tão cedo na ciência, enquanto professor, aguçando minha curiosidade, respeito e amor à natureza. Pelo total incentivo aos meus estudos e escolhas, esse trabalho é um resultado do caminho que trilhei com grande protagonismo de seu apoio.

Agradeço ao meu orientador Daniel Pessoa, que me guiou até aqui desde a graduação. Minha gratidão pela disponibilidade e paciência que teve comigo por todo esse tempo, especialmente nos últimos dois anos. Sempre muito interessado e presente, suas ideias, direcionamentos, conselhos, cobranças e incentivos foram enormemente valiosos à minha formação. Agradeço infinitamente pelas oportunidades que me deu e, sobretudo, por acreditar em mim.

À minha co-orientadora, Ana Carolina Luchiari, e sua equipe do FishLab, especialmente Jaqueline e Priscila. Por todo o material que tornou meu experimento possível, as orientações, sugestões e confiança que me foram dadas.

Aos meus colegas do Sensory Ecology Lab, pelas ideias compartilhadas e pelo ambiente de apoio e descontração. A Joaquim, que prontamente me ajudou na manutenção dos animais sempre que precisei, a Vinícius e Diogo que colaboraram com a modelagem visual, e especialmente a Felipe, que foi meu braço direito em grande parte dessa jornada. Sempre muito disponível e dedicado, quebrou a cabeça comigo em Photoshop, fabricação de estímulos, testes estatísticos... Foi um grande apoio quando eu achei que não ia dar certo e teve grande contribuição nesse trabalho, então meu muitíssimo obrigada.

À minha mãe, minha maior fortaleza. Por todo o esforço e abdicação que fez por mim e, especialmente, pelo seu envolvimento nesse mestrado. Sua disponibilidade incondicional para ajudar com qualquer etapa do trabalho, desde auxílio financeiro para material, à manutenção dos animais, limpeza de aquário, ideias de aparato, apoio emocional... A lista é enorme, assim como minha sorte e gratidão.

Ao meu companheiro, Renato, meu fiel escudeiro. Por todos os finais de semana e noites em que me acompanhou ao laboratório, a preocupação com minha segurança, meu bem-estar, as sugestões na escrita do trabalho, a total disponibilidade para ajudar no

que quer que fosse, o carinho, a leveza que deu aos meus dias mais cansativos. Minha enorme gratidão por toda a compreensão, amor e companheirismo.

Aos meus colegas do Instituto do Cérebro, Ana Raquel Torres, pela contribuição nas etapas iniciais desse trabalho, tanto na estrutura residencial dos animais, quanto no pré-projeto, e a João Bacelos e João Patriota, pelo compartilhamento de ideais, conceitos e material.

A Dina, pela colaboração nos testes estatísticos.

Aos meus familiares e à minha torcida, os queridos do grupo das POC (Pablo, Denilson, Ralzinho e Anthony), Ciro, Catarina, Rebeca, Renata, Yan, Milagros e Pepe, pelo constante incentivo e carinho que me foram tão essenciais.

À Universidade Federal do Rio Grande do Norte, ao Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por terem viabilizado esse trabalho.

À Fívia Lopes, pela empatia, acolhimento e suporte que me foram dados durante o mestrado.

Ao meu cachorro, Baruc, que me trouxe alegria mesmo nos dias mais pesados, me fez companhia em todas as noites de trabalho e sempre me faz lembrar que a felicidade está nas coisas mais simples.

E a todos que não citei, mas que, de uma maneira ou de outra, ajudaram nessa importante etapa da minha vida.

RESUMO

A ordem Gymnotiforme abrange peixes elétricos de ondas fracas que são amplamente utilizados para estudos em eletrocomunicação. O corpo teórico referente à visão desses animais é escasso, uma vez que possuem olhos pouco especializados em relação ao sentido elétrico. Em comparação às evidências fisiológicas do Gymnotiforme *Eigenmannia virescens*, estima-se que o peixe elétrico sul-americano Ituí-cavalo (*Apteronotus albifrons*) possua visão monocromata sensível a longos comprimentos de onda. Entretanto, até o momento, nenhum experimento demonstrou a percepção de cores nesse animal por base comportamental, assim como não foi investigada a influência da pista de brilho em seu comportamento natural. No presente estudo, testamos oito Ituí-cavalos no laboratório de Ecologia Sensorial da UFRN para preferência de brilho e cor por comparações em substratos. Seleccionamos os estímulos através de modelagem visual para visão fotópica (intensidade luminosa alta) e mesópica (intensidade luminosa intermediária) do peixe sob iluminante de 800 e 8 lux, respectivamente. Referenciamos os parâmetros de brilhos em 40, 65, 70 e 100% ao padrão de refletância da cor cinza, bem como os parâmetros de cromaticidade em 100% do padrão de refletância das cores amarela e verde. Seccionamos substratos circulares em três partes iguais, sendo um para o experimento de brilhos, dividido em cinza40 (escuro), cinza70 (intermediário) e cinza100 (claro), e um para o de cores, dividido em amarelo100, verde100 e cinza65. Considerando a visão do peixe, controlamos as áreas utilizadas no teste de brilho para o mesmo valor cromático e variamos apenas em valor acromático, incitando discernimento unicamente baseado na pista de brilho; no teste de cor, controlamos todas as áreas para o mesmo valor acromático e variamos apenas em valor cromático, garantindo que o animal só as diferenciasse caso possuísse visão de cores. Registramos como parâmetro determinístico de preferência o tempo gasto/área do estímulo. Os resultados mostraram que o Ituí-cavalo possuiu preferência populacional por brilhos mais escuros, evitando o mais claro, e que as eventuais preferências de cor foram individuais, sem qualquer padrão discernível. A preferência por substratos escuros pode ser justificada como uma possível manobra para reduzir estresse e/ou risco de predação, assim como observado em *Heterandria formosa*, enquanto a preferência por cores sugere um possível desajuste da modelagem visual delineada para o Ituí-cavalo. Essas conclusões demonstram a importância da experimentação comportamental para a verificação prática de estudos fisiológicos.

Palavras-chave: Visão de cores; Preferência de substrato; Gymnotiforme; Modelagem visual.

ABSTRACT

The Gymnotiform weakly electric fishes are widely used as animal models for studies in electrocommunication. The theoretical body regarding the vision of these animals is scarce, since their eyes are less developed than their electric sense. In comparison to the physiological evidence from the Gymnotiform *Eigenmannia virescens*, it is believed that the South American electric fish Ituí-cavalo (*Apteronotus albifrons*) is a long-wave-sensitive cone monochromat. However, no experiment demonstrated the color perception in this animal by behavioral basis so far, nor was the influence of the brightness cue on its natural behavior investigated. In the present study, we tested eight Ituí-cavalos in the UFRN Sensory Ecology laboratory on preference for brightness and color by comparisons on backgrounds. We selected the stimuli after visual modeling for the photopic (high light intensity) and mesopic (intermediate light intensity) vision of the fish under 800 and 8 lux, respectively. We referenced the brightness parameters at 40, 65, 70 and 100% to the gray color reflectance standard, while the chromaticity parameters were 100% of the reflectance pattern of yellow and green colors. We divided circular backgrounds into three equal parts, one for the brightness experiment, divided into gray40 (dark), gray70 (intermediate) and gray100 (light), and one for color test, divided into yellow100, green100 and gray65. We controlled the grays used in the brightness test for the same chromatic value and varied only in achromatic value, inciting discernment based solely on the brightness cue; in the color test, we controlled all colors for the same achromatic value and only varied in chromatic value, guaranteeing that the animal would only differentiate them if it had color vision. We recorded the time spent/area of the stimulus as a deterministic parameter of preference. The results showed that the Ituí-cavalo had a populational preference for darker shades, avoiding the lightest one, and that the possible color preferences were individual, without any discernible pattern. The preference for dark backgrounds can be justified as a possible maneuver to reduce stress and/or risk of predation, as observed in *Heterandria formosa*, while color preference rests on a possible visual modeling mismatch of visual modeling outlined for the Ituí-cavalo. These findings demonstrate the importance of behavioral experimentation for the practical verification of physiological studies.

Keywords: Color vision; Background preference; Gymnotiform; Visual modeling.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 MATERIAIS E MÉTODOS	6
2.1 Sujeitos	6
2.2 Estímulos	7
2.2.1 Modelagem visual.....	7
2.3 Aparato experimental	10
2.3.1 Iluminação	11
2.3.2 Gravação e análise de vídeo	11
2.4 Procedimento experimental.....	12
2.4.1 Habituação	12
2.4.2 Condição fotópica	12
2.4.3 Condição mesópica	13
2.5 Análises estatísticas	13
3 RESULTADOS	13
3.1 Resposta comportamental ao substrato	13
3.2 Experimento controle	14
3.3 Experimento 1: condição fotópica	14
3.3.1 Brilhos	14
3.3.2 Cores	15
3.4 Experimento 2: condição mesópica	16
3.4.1 Brilhos	16
3.4.2 Cores	16
4 DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	22

6 REFERÊNCIAS 23

ANEXOS29

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Estímulos utilizados como substratos no aparato experimental	8
FIGURA 2 Paletas de cores escolhidas para compor para os substratos experimentais	10
FIGURA 3 Arena experimental	11
FIGURA 4 Preferências individuais nos testes de brilho na condição fotópica	17
FIGURA 5 Preferências individuais nos testes de brilho na condição mesópica	19

1 INTRODUÇÃO

O sentido visual é grande protagonista na experiência sensorial de muitos animais devido à possibilidade de detalhamento do ambiente em que se inserem. Assim, os sinais visuais são tidos como relevantes à performance de diversos comportamentos (Bradbury & Vehrencamp, 1998). A visão adquire informações dos arredores que resultam em comportamentos importantes à sobrevivência, como orientação espacial baseada em pontos de referência, (Collet, 1992), defesa à predação (Wehner, 2003; Cronin & Jinks, 2001), reprodução (Nunes & Andreatta, 2010), reconhecimento e captura de presas (Wallraff, 1980; Cronin, 1986).

O mecanismo de percepção visual se desencadeia a partir da luz, que é detectada na retina através dos fotorreceptores. Estes, estão determinados em dois tipos: cones e bastonetes, que podem estar duplicados em muitos vertebrados, proporcionando as visões fotópica e escotópica, respectivamente (Hisatomi & Tokunaga, 2002). Os fotorreceptores contêm pigmentos visuais compostos por uma proteína denominada opsina, a qual determina suas sensibilidades a certos comprimentos de onda do estímulo luminoso. A visão acromática pode existir em qualquer sistema visual (Olsson et al., 2017), mas para que haja o discernimento de cores, devem existir na retina fotorreceptores com sensibilidades espectrais diferentes e oriundos de canais separados que possam ser comparados (Wheeler, 1982). Contudo, é importante considerar que, caso os sinais dos fotorreceptores sejam convergidos por um único canal, duas cores só serão discerníveis entre si se diferirem em brilho (Siebeck et al., 2008). Consequentemente, a visão de cores pode ser definida como a habilidade de distinguir entre dois estímulos cromáticos desconsiderando a pista de brilho (Kelber et al, 2003).

As opsinas dos vertebrados podem ser separadas em grupos com base nos pigmentos sensíveis a longos, médios e curtos comprimentos de onda, além da rodopsina expressa nos bastonetes. Os pigmentos sensíveis a longos comprimentos de onda (LWS – “long wavelength sensitive”) absorvem luz na faixa amarela e vermelha do espectro eletromagnético, de 500 a 570 nm; a rodopsina (RH1) absorve azul e verde em torno de 500 nm; os pigmentos sensíveis a médios comprimentos de onda (RH2) absorvem na faixa do verde, de 480 a 530 nm, e os pigmentos sensíveis a curtos comprimentos de onda (SWS – “short wavelength sensitive”) podem ser de dois tipos, sendo o SWS1 responsável pela visão ultra-violeta, de 355 a 445 nm, e o SWS2 responsável pela absorção na faixa do azul e violeta, de 400 a 470 nm (Yokoyama, 2000).

Diversas duplicações e perdas de genes que codificam opsinas podem compor o repertório visual dos vertebrados, o que se justifica pelas variáveis ecológicas dos habitats (Yokoyama, 2002). Os sistemas visuais foram especializados de acordo com as condições de luz e disponibilidade de comprimentos de onda nos diferentes tipos de ambientes (Landsberger et al., 2008). Assim, perceber cores é possível para animais que habitam locais onde o espectro da luz do sol é incidido (Brown, 1957; Caldwell & Dingle, 1975; Pitcher, 1993).

Nos ambientes terrestres, a iluminação padrão é branca, mas esverdeia-se quando filtrada pelas folhas em ambientes florestais (Vorobyev et al., 1998). Na água, a luz ambiente varia em dispersão e absorção de acordo com profundidade e pureza/turbidez, tornando-se azulada em águas oceânicas, esverdeada em águas costeiras e amarronzada em água doce (Loew & Lythgoe, 1985). Assim, a percepção de cores dos animais aquáticos varia em decorrência da incidência de luz em seus habitats (Dartnall, 1975).

Em águas doces, a modificação nas propriedades da luz é muito notável em virtude da ocorrência de ciclos sazonais, que se definem pela variação nas concentrações de sedimentos ao longo da coluna de água (Guthrie, 1986). Em consequência da presença de partículas suspensas e matéria orgânica dissolvida, o espectro de luz incidente é constantemente reduzido à medida que se aprofunda no ambiente aquático, tornando-se cada vez mais monocromata (Tyler, 1959).

A hidrografia da Amazônia é composta por três tipos de águas com diferentes saturações, geralmente referidas como preta, branca e transparente (Sioli, 1950; Devol & Hedges, 2001). As águas mais saturadas (pretas e brancas) possuem em suas zonas eufóticas a predominância de luz vermelha - sendo as radiações azul e verde inexistentes abaixo de 0,5 m de profundidade, enquanto que na água menos saturada (transparente) predominam tanto as luzes verde quanto a vermelha (Costa et al., 2011). No bioma amazônico, um único rio pode ser formado pela mistura das três águas (Walker, 1990).

Diante das condições altamente variáveis às quais se inserem, é improvável que diversos peixes amazônicos desenvolvam pigmentos visuais não-correspondentes aos seus habitats. Sandkam et al. (2015) demonstraram que a visão de cores de peixes amazônicos – medida pela expressão de opsinas – varia mais entre populações da mesma espécie do que entre diferentes espécies do mesmo local.

A escolha do habitat por alguns animais pode ter como fatores visuais determinísticos pistas de cor e de brilho. A cor e o padrão do corpo de um animal podem incitar a estratégia de *background matching*, na qual a semelhança visual do indivíduo

com seus arredores ou a inserção em um substrato complexo diminuem sua exposição à predadores (Endler, 1978; Merilaita, 2003). Isso foi demonstrado em experimentos com peixes como *Salmo trutta* (Johnsson & Kjällman-Eriksson, 2008) e *Oncorhynchus mykiss* (Papoutsoglou et al., 2005). Ainda, determinadas cores podem funcionar como agentes causadores ou aliviadores de estresse, como evidenciado por Rabbani & Zang (2005) com a preferência do caranguejo *Scylla serrata* por substratos escuros.

Alguns peixes também demonstram preferência por substratos escuros. Experimentos comportamentais sugerem que essa característica pode trazer vantagens para espécies como *Danio rerio* (Blaser & Peñalosa, 2011), *Pagrus pagrus* (Rottlant et al., 2003), e *Heterandria formosa* (Kjernsmo & Merilaita, 2012). Esses estudos demonstram que a preferência por esse tipo de substrato influencia não somente na redução da exposição predatória ou de estresse, mas também no aumento do forrageio e otimização do desenvolvimento larval.

A ordem Gymnotiforme abrange peixes elétricos de ondas fracas que habitam as águas da América do Sul e América Central. A maioria das espécies pertence à família Apterontidae, habitando a Amazônia em planícies de inundação ou partes mais profundas dos rios (Takiyama et al., 2015). Esses animais possuem um sistema eletrosensorio ativo e sofisticado caracterizado por órgãos elétricos neurais e musculares que lhes conferem a capacidade de gerar um campo elétrico ao redor do corpo (Bastian, 1982). Os olhos dos Apterontidae, contudo, são pouco especializados (Albert, 2003), esperando-se que possuam capacidades visuais precariamente desenvolvidas e ocupem nichos caracterizados por baixa visibilidade e alta atividade noturna (Landsberger et al., 2008).

O Ituí-cavalo (*Apterontus albifrons*) é um Apterontidae amazonense de hábito noturno que se utiliza primariamente de seu caráter eletrosensorio na hierarquia de sentidos (Giassi et al., 2011; Lavoué et al., 2012; Dangelmayer et al., 2016). Essa espécie possui olhos pequenos sem movimentos evidentes e com lentes achatadas – diferentemente das lentes arredondadas de outros teleósteos - bem como aparentemente não possuem fóvea e suas células ganglionares estão em baixa densidade na retina, resultando em uma baixa capacidade de resolução espacial (Bastian, 1982; Sivak, 1990; Takiyama, 2015; Munk, 1984). Ainda, em disparidade ao que foi observado por Landsberger et al. (2008) no peixe elétrico africano *Gnathonemus petersii* (Mormyridae, Gymnotiforme), não foi evidenciada em *A. albifrons* qualquer adaptação da camada de fotorreceptores à luz fraca (Takiyama, 2015). É importante ressaltar que existem

consideráveis diferenças visuais entre os indivíduos da espécie, pois embora compartilhem de uma distribuição ganglionar disforme na retina, apresentam diferentes picos de densidade dessas células, afetando a acuidade visual e repercutindo em variadas estratégias de predação (Takyiama, 2015).

Embora a visão do Ituí-cavalo seja empobrecida, em comparação à de outros peixes, seu papel de complemento à eletrorrecepção é relevante. Bastian (1992) observou que as informações provenientes dos dois sentidos são conjuntamente interceptadas pelo teto óptico. Em complemento, um estudo recente realizado por Dangelmayer et al. (2016) demonstrou, comportamentalmente, que esse animal é capaz de discernir pistas visuais isoladas do sentido elétrico, como também foi descrito nos Gymnotiformes *G. petersii* (Schumacher et al., 2017) e *Eigenmannia virescens* (Heiligenberg, 1973).

A perda de opsinas, como RH2 e SWS2, pode ser observada em alguns vertebrados que possuem hábitos noturnos ou que priorizam outros sentidos que não a visão (Liu et al., 2016). Diante disso, o repertório de opsinas dos Gymnotiformes foi descrito através de microespectrofotometria e eletroretinograma para os peixes noturnos *A. albifrons*, *E. virescens*, *Sternopygus macurus* e *Electrophorus electricus* (Liu et al., 2016). Liu et al. (2016) descobriram genes que codificam opsinas de cones LWS, opsinas de bastonetes (RH1) e opsinas de cones RH2 (exceto em *A. albifrons*), mas não observaram quaisquer genes para opsinas de cones SWS - apenas no tecido extrarretinal de *E. electricus*. Embora tenham encontrado genes RH2 para a maioria das espécies consideradas, não identificaram sua expressão através de eletrofisiologia. Assim, considera-se que esses peixes sejam monocromatas para longos comprimentos de onda com pico de absorção na faixa do vermelho. O mesmo perfil descrito acima foi observado na retina do bagre (*Clarias gariepinus*) (Blackshaw & Snyder, 1997; Kawamura et al., 2017), presente no grupo irmão dos Gymnotiformes, e suporta a hipótese de que as opsinas de cones SWS de ambos os grupos teriam sido perdidas por um ancestral comum (Liu et al., 2016).

Embora *C. gariepinus* seja considerado monocromata para longos comprimentos de onda com pico de absorção no vermelho, Lythgoe & Patridge (1989) demonstraram que o gene RH2 pode ser expresso por tecidos extrarretinais em alguns desses animais. Em complemento, Kawamura et al. (2017) conduziram um experimento comportamental indicando que a larva de *C. gariepinus* é capaz de discriminar a cor verde quando em intensidades de luz intermediárias. Isso se justifica porque, a níveis mais baixos de intensidade de luz, o aumento da atividade dos bastonetes evidencia o brilho (Benimoff

et al., 1982) e reduz a saturação das distribuições espectrais dos matizes de cores (Buck et al., 1998; Lythgoe, 1931). Assim, a luz monocromata de 540 – 610 nm pode passar a ser percebida de maneira esverdeada pelo bagre, que possui o gene RH2 em tecidos externos à retina. O mesmo experimento de Kawamura et al. (2017), que testou visão de cores, demonstrou que o bagre possui, ainda, a capacidade de discernir entre diferentes brilhos, evidenciando a existência de canais separados de cor e luminância em sua retina. Essa capacidade também foi verificada, com base comportamental, para o Ituí-cavalo através do experimento de Dangelmayer et al. (2016), mas não foi investigada qualquer preferência da espécie por algum brilho específico.

Diante da proximidade filogenética, seria possível esperar que o mesmo padrão visual de expressão extrarretinal do gene RH2 do bagre fosse observado em alguns Gymnotiformes sul-americanos em condições mesópicas. Essa analogia, entretanto, não deve ser aplicada à *A. albifrons*, visto que essa espécie sequer possui o gene que codifica essa opsina (Liu et al., 2016), estando fisiologicamente descartada a possibilidade de que enxergue a cor verde. Todavia, não existe na literatura qualquer procedimento comportamental que tenha verificado tal fato.

A metodologia utilizada em testes comportamentais para verificação de visão de cores deve controlar pistas de luminância para que se minimize a influência do brilho no discernimento de diferentes matizes (Siebeck et al., 2008; Kelber et al., 2003). Da mesma forma, testes para discernimento de brilhos devem fixar um valor cromático para que apenas a pista acromática seja relevante. Assim, através de modelagem visual provida por uma estimativa prévia da sensibilidade espectral do animal em questão (Vorobyev et al., 2001), é possível a confecção de estímulos com os respectivos valores cromáticos e acromáticos adequados à visão da espécie.

Diante da escassa literatura acerca das capacidades visuais dos Gymnotiformes, no presente estudo investigamos se existem preferências em relação às variáveis de cor e brilho de substratos em *A. albifrons*. Testamos oito animais em laboratório com substratos artificiais confeccionados a partir de modelagem visual considerando a visão da espécie. Utilizando-se da evidência comportamental de que o Ituí-cavalo é capaz de comparar valores acromáticos (Dangelmayer et al., 2016), avaliamos a preferência espontânea de cada indivíduo entre três diferentes brilhos de uma mesma cor, esperando-se que as escolhas se direcionassem aos substratos mais escuros como estratégia de redução de estresse, como já evidenciado para outras espécies (Blaser & Peñalosa, 2011; Rottlant et al., 2003; Kjernsmo & Merilaita, 2012). Ainda, tendo em vista as evidências fisiológicas

encontradas por Liu et al. (2016), que sugerem o caráter monocromata da espécie, bem como a ausência de opsinas sensíveis ao verde, avaliamos por base comportamental a preferência dos indivíduos diante de três substratos com diferentes valores cromáticos de mesmo brilho, a fim de verificarmos a visão de cores da espécie.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Sujeitos

Adquirimos oito Ituí-cavalos (*Apteronotus albifrons*) adultos entre 8 e 15 cm de comprimento foram em uma loja de aquarismo (Pirangi Aquarius – Natal, Rio Grande do Norte, Brasil) e instalados no Biotério Multiusuário do Departamento de Fisiologia e Comportamento, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Identificamos os peixes por números de 1 a 8, mas não definimos seus sexos, uma vez que tal reconhecimento só é possível através de genotipagem. Consideramos o temperamento dos animais como parâmetro adicional, visto que alguns indivíduos tendem a ter sucesso em situações de risco e novidade, enquanto outros recuam diante das mesmas situações (Wilson et al., 1994). Assim, após observações durante o período de aclimação, os peixes 1, 4, 7 e 8 foram considerados *shy* por hesitarem na exploração da arena experimental, enquanto que os peixes 2, 3, 5 e 6 foram considerados *bold* por circularem livremente pela arena experimental.

Cada peixe foi mantido em um aquário individual de 45 L (50 cm de comprimento x 30 cm de largura x 30 cm de altura) com constante aeração, filtração biológica e mecânica, plantas artificiais semelhantes entre si, água com temperatura variando de 27 a 29 °C, controle de pH em torno de 7,0 e alimentação diária de artêmias salinas, bloodworm e ração comercial. A troca de 40% do volume de água ocorreu a cada duas semanas para manutenção de um ambiente limpo e saudável. O fotoperíodo foi controlado por um timer 12claro:12escuro com intensidade de luz em aproximadamente 300 lx. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso Animal sob o número 036.023/2017. A aclimação e os testes foram realizados no período da noite, das 18 às 23h, quando a espécie é mais ativa (Nelson, 2006).

Em dias de teste os animais só foram alimentados ao término das sessões, evitando que fosse criada qualquer associação entre exploração e recompensa alimentar. Não houve mortalidade e nenhum indivíduo foi excluído do experimento.

2.2 Estímulos

Os estímulos foram confeccionados com folhas de papel A3 coladas entre si e recortadas em formato circular. Estes, mediam 70 cm de diâmetro e seccionados em três partes iguais com fita adesiva preta, cada estímulo apresentava três possibilidades de escolha de substrato para o animal.

Foram elaborados três substratos: 1 – substrato controle, com todas as áreas brancas divididas pelas demarcações (Fig. 1A); 2 – substrato de brilhos, dividindo três diferentes brilhos de cinza (Fig. 1B) e 3 – substrato de cores, dividindo amarelo, verde e cinza (Fig. 1C). O substrato 1 foi designado para o experimento controle, uma vez que todas as áreas eram igualmente brancas e o animal não estaria preferindo nenhuma por qualquer característica, cromática ou acromática, em particular. O substrato 2 foi confeccionado para o experimento de brilhos, no qual o valor cromático do cinza das três áreas era o mesmo e apenas o valor acromático variava, possibilitando que o peixe se baseasse unicamente na pista acromática para uma possível preferência. O substrato 3, para o experimento de cores, no qual as escolhas do substrato deveriam se basear unicamente na pista cromática, uma vez que o estímulo era composto por três diferentes cores que não diferiam em brilho.

2.2.1 Modelagem visual

Ciente de que limites visuais são difíceis de precisar, sobretudo em um animal que tem visão empobrecida como o Ituí-cavalo, utilizamos de modelagem visual para controlar e definir as variáveis a serem utilizadas nos estímulos. Tal metodologia, observada em trabalhos com répteis (Stuart-Fox & Ord, 2004; Stuart-Fox et al., 2004) e aves (Endler & Mielk, 2005; Shaefer et al., 2007; Spottiswoode & Stevens, 2010), muitas vezes não é utilizada em estudos comportamentais referentes à visão de peixes, embora tenha sido observada em trabalhos como o de Champ et al. (2016) para o limiar da visão de cores em peixes de coral. Assim, considerou-se essencial a padronização dos estímulos para aumentar a credibilidade dos dados do presente estudo.

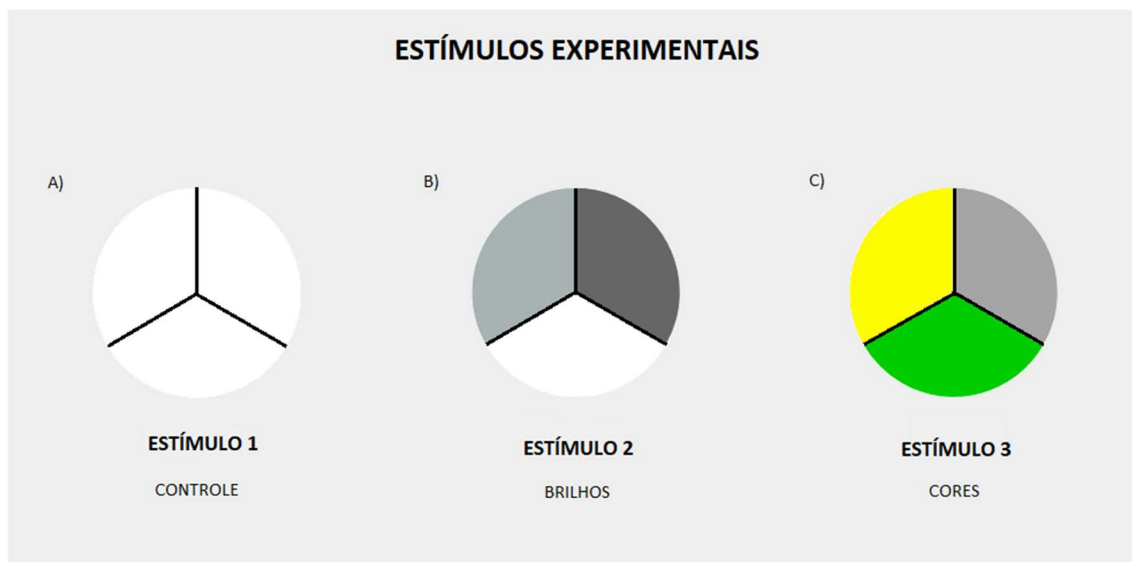


Figura 1. Estímulos utilizados como substrato no aparato experimental. A) Estímulo 1 com todas as áreas iguais, designado como experimento controle; B) Estímulo 2, contendo três diferentes brilhos da mesma cor, designado como experimento de preferência de brilhos e C) Estímulo 3, contendo três diferentes cores com o mesmo valor acromático, designado como experimento de preferência de cores.

Para controlar os brilhos e as cores utilizadas nos substratos, fez-se necessária a adaptação dos estímulos para a visão do *A. albifrons*, visto que a percepção humana difere da percepção do peixe. Adequamos os brilhos e cores dos estímulos ao sistema de cores CMYK através do Adobe Photoshop (Creative Cloud, Adobe Systems Inc., 2018). Inicialmente, realizamos a calibragem do espectrofotômetro (USB2000 VIS-NIR Fibre Optic Spectrometer, Ocean Optics, Inc.) conectando-o a uma fibra óptica bifurcada (R400-7-UV-VIS, Ocean Optics, Inc.), medindo a refletância de superfície branca padrão (WS-1, Ocean Optics, Inc.) e obstruindo a fibra (padrão escuro). Posteriormente, realizamos as medidas do espectro de refletância dos gradientes de seis cores impressas (preto, amarelo, verde, azul, laranja e vermelho), cada uma em 21 *patches* de diferentes tonalidades de brilhos. Medimos, também, o iluminante à superfície da água no aparato experimental com o espectrofotômetro conectado a uma fibra conectada a um corretor cosseno (cc-3-UV-S, Ocean Optics, Inc.), tudo calibrado por uma fonte (LS-1-CAL, Ocean Optics, Inc.) para que pudessem ser conduzidos os cálculos de contraste de cor para a visão do Ituí-cavalo.

Utilizamos o modelo visual baseado no limiar de ruídos nos fotorreceptores para investigar a detecção de contrastes (Vorobyev & Osorio, 1998). Esse modelo é capaz de estimar limites de discriminação cromática para um estímulo se um número relativamente

pequeno de parâmetros do sistema visual da espécie é conhecido, como a sensibilidade espectral e o número de fotorreceptores (Olsson et al., 2017). No caso do Ituí-cavalo, um único fotorreceptor com absorção espectral em 600 nm descrito em uma espécie próxima (*E. virescens*) é a informação que possibilita a modelagem para sua visão (Liu et al., 2016). Baseamos o cálculo no espectro do iluminante do recinto experimental, na curva de sensibilidade estimada dos cones dos Gymnotiformes e no espectro de refletância coletado das cores impressas, gerando valores de captação quântica para o fotorreceptor modelado. Com base nesses valores de captação quântica, estimamos as distâncias cromáticas entre as três áreas de cada estímulo em unidades de *Just noticeable difference* (JND) - nas quais os contrastes entre dois objetos (alvo contra background) podem ser percebidos por um dado sistema visual se excederem o limite de 1 JND (Sperling & Harwerth, 1971). Distâncias acromáticas também foram estimadas. Todas as comparações par a par possíveis entre duas cores impressas foram calculadas, resultando em diferentes valores de contraste de cor e de contraste de brilho em unidades de JND.

A visão da espécie foi modelada para as seguintes condições: 1 – fotópica (intensidade de luz alta), considerando que seja monocromata com pico de absorção em 600 nm –, e 2 – mesópica (intensidade de luz intermediária), considerando que seja dicromata com um bastonete e um cone com picos de absorção em 520 e 600 nm, respectivamente. Para a montagem do substrato destinado ao experimento de detecção de brilhos, o valor cromático (dS) das três áreas deveria ser < 1 JND, enquanto que o acromático (dL) > 1 JND. De maneira análoga, para o substrato do experimento de detecção de cores, $dS > 1$ JND e $dL < 1$ JND. As análises foram realizadas com o pacote *pavo* (Maia et al., 2013) na interface R 3.2.1 (R Development Core Team, 2015).

As porcentagens de brilhos foram definidas em 40, 65, 70 e 100% em relação ao sistema RGB referidos como cinza40 (#666666), cinza65 (#a6a5a6), cinza70 (#a6b3b3) e cinza100 (ffffff) (Fig. 2 A). Os parâmetros de cromaticidade foram estabelecidos em 100% ao padrão de refletância do amarelo e 100% ao padrão do verde, referidos em amarelo100 (ffff00) e verde100 (#69bd45) (Fig. 2 B).

Em comparação, cinza40 (escuro), cinza70 (intermediário) e cinza100 (claro) possuem o mesmo valor cromático e diferentes brilhos entre si. Assim, estão adequados à composição do Estímulo 2 utilizado na preferência de brilho. Em relação ao Estímulo 3, diante de todas as comparações possíveis entre os patches medidos, apenas cinza65,

amarelo100 e verde100 coincidiram em brilho e diferiram em valor cromático, sendo assim eleitos para compor a tríade do estímulo nos experimentos de cores.

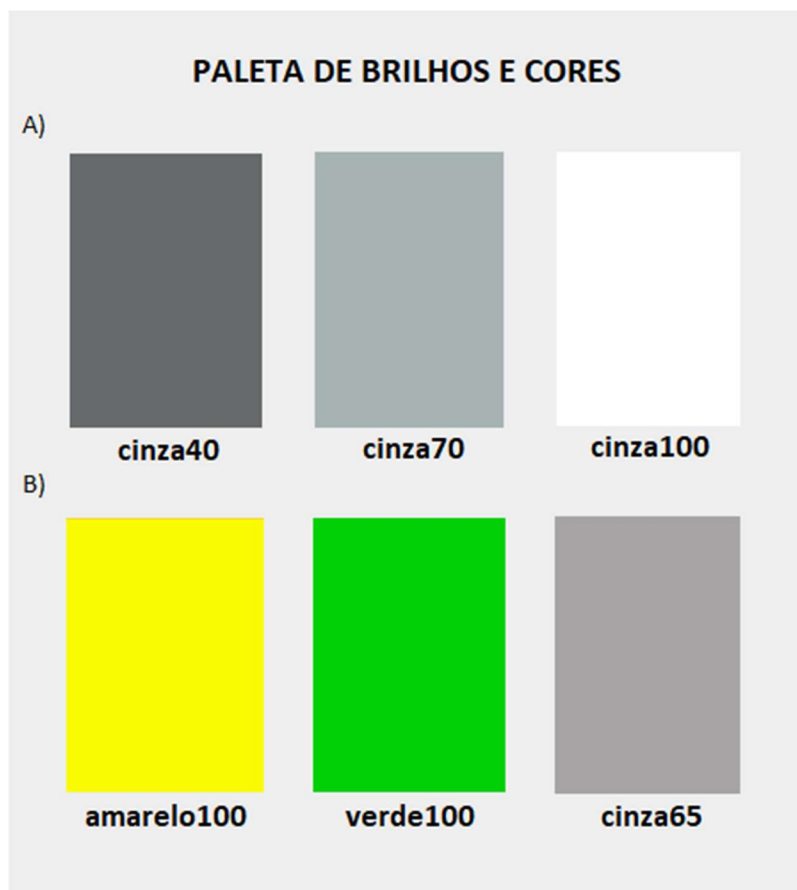


Figura 2. Paleta de cores escolhidas como estímulo para compor os substratos experimentais. A) Três diferentes brilhos do mesmo cinza para o Estímulo 2, destinado aos experimentos de brilhos; e B) três diferentes cores com o mesmo brilho para o Estímulo 3, destinado aos experimentos de cores.

2.3 Aparato experimental

A habituação ao aparato e as sessões experimentais foram realizadas em um aquário quadrado de 70 cm de largura x 70 cm de comprimento x 15 cm de altura, delimitado internamente, em círculo (70 cm de diâmetro), por uma folha de fórmica. A arena experimental possuía o fundo transparente para que os substratos ficassem visíveis quando posicionados abaixo dele, sendo a aplicação do fundo externa ao aquário para que os animais não coletassem informações do substrato de maneira elétrica (Fig. 3). Não foi disponibilizada aeração ao aparato durante o período experimental para que o aerador não representasse uma distração ao animal. O recinto onde os testes foram realizados continha

apenas o aparato experimental, as luminárias experimentais, a filmadora, uma estante com os oito aquários-residência, uma bancada de mármore, uma porta e nenhuma janela, minimizando o estímulo visual, acústico e sísmico dos indivíduos em experimento com o ambiente.

2.3.1 Iluminação

À superfície da água, medimos a intensidade de luz em unidades de *foot candle* pelo luxímetro Extech Instruments HD 400 Light Meter (FLIR Commercial Systems Inc.) e convertemos para lux (lx). Na condição fotópica, utilizamos três lâmpadas de LED e uma fluorescente, atingindo 800 lx. Estabelecemos a condição mesópica com uma lâmpada de LED em luminária envolta por papel manteiga, atingindo 8 lx.



Figura 3. Arena experimental. Os oito animais (*gênero espécie*) foram testados para preferência de brilho e cor em um aquário quadrado com arena circular de fundo transparente, sob o qual foram posicionados os diferentes estímulos de acordo com o experimento.

2.3.2 Gravação e análise de vídeo

A fim de estabelecer a preferência de um peixe por um determinado substrato, foi considerado como parâmetro comportamental o tempo (em segundos) que cada indivíduo

passou em cada área do substrato. Os experimentos foram registrados por uma câmera JVC GZ-HM65 posicionada acima do aquário experimental e suportada por hastes de alumínio. Os vídeos de cada sessão foram analisados manualmente pelo experimentador, totalizando em 80 horas de análises.

2.4 Procedimento experimental

2.4.1 *Habituação*

Os animais foram habituados ao aparato experimental durante 30 dias consecutivos, para amenizar o efeito do estresse em seus desempenhos. Durante esse processo, a arena experimental não possuía estímulos (apenas a fórmica circular), a iluminação ambiente foi definida em 150 lx, e cada peixe passou 10 minutos por dia em exploração. A ordem de habituação diária dos indivíduos foi estabelecida randomicamente.

2.4.2 *Condição fotópica*

Após o período de habituação realizamos o experimento controle durante três dias consecutivos, das 18 às 23 h. Ajustamos a iluminação da sala para 800 lx e abaixo da arena experimental de fundo transparente posicionamos o Estímulo 1 (todas as áreas brancas). Cada animal foi transferido com uma rede de captura ao aparato, onde passou 40 minutos sozinho em interação com o substrato circulando livremente entre as três áreas do estímulo. Ignoramos os 10 primeiros minutos diários de cada peixe na arena, em consideração a um possível estresse pela mudança de ambiente. Todos os animais foram capazes de distinguir visualmente os limites das áreas dos estímulos, visto que, deparando-se com as linhas de substrato, poderiam mudar seus comportamentos natatórios, velocidades, parar ou dar a volta para permanecerem na área que estavam.

Nos quatro dias seguintes ocorreu o teste da discriminação de brilhos, no qual utilizamos o Estímulo 2 em uma sessão por dia. Nesse período, mantivemos todas as condições definidas para o experimento controle, excetuando-se o substrato. Este, foi rotacionado diariamente em 120° à direita para garantir que a escolha fosse realizada apenas com base em informações visuais do substrato, e não com relação às demais características espaciais ou informações provenientes de outros sentidos (e.g. campo

magnético). Após o quarto dia do experimento de discriminação de brilhos, decorreu-se por quatro dias o experimento de discriminação de cores, seguindo um protocolo experimental idêntico ao anteriormente descrito, mas substituindo o Estímulo 2 pelo Estímulo 3. Como todos os testes foram realizados para identificar escolhas espontâneas dos estímulos pelos animais, não houve reforçamento alimentar durante as sessões.

2.4.3 Condição mesópica

Os testes ocorreram sob a iluminação de 8 lx. Tal intensidade luminosa, com base nos achados de Liu et al. (2016) para uma outra espécie de Gymnotiforme (*E. virescens*), poderia permitir a ativação tanto de cones quanto de bastonetes. Seguindo o mesmo protocolo experimental descrito para a condição fotópica, os oito Ituí-cavalos foram testados quanto a discriminação de brilho (quatro dias) e discriminação de cor (quatro dias), sendo submetidos a uma única sessão experimental por dia, das 18 às 23 h, visando investigar possíveis adaptações visuais à condição mesópica.

2.5 Análises estatísticas

A proporção de tempo gasto nas áreas dos estímulos foi utilizada como variável dependente.

Conduzimos testes de Kruskal-Wallis e Testes t para comparar as permanências do grupo de animais nas áreas de um mesmo substrato, a fim de inferir se existiu qualquer preferência em nível de população. Ainda, para detectar em nível de indivíduo se a escolha observada desviou do esperado ao acaso de 33% para cada uma das três áreas, realizamos testes de Qui-quadrado de aderência.

Considerou-se um nível de significância de 0,05 para todos os testes e todas as análises estatísticas foram realizadas no SPSS 249 v19 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3 RESULTADOS

3.1 Resposta comportamental ao substrato

Os indivíduos *bold* (2, 3, 5 e 6) exibiram comportamento exploratório na maior parte do tempo em que estiveram no aquário experimental, além de transitarem em todas

as partes da arena. Os indivíduos *shy* (1, 4, 7 e 8) pouco arriscaram o centro, exibiram comportamentos de *freezing* (extinção temporária dos movimentos corporais, exceto os associados à respiração e visão; Misslin, 2003) por longos períodos e exploraram menos, principalmente nos primeiros minutos diários de teste.

3.2 Experimento controle

Como esperado, o tempo que a população de Ituí-cavalo passou em cada área do estímulo controle não diferiu (Tabela 1 do ANEXO I), estando, assim, a distribuição em todas as áreas equivalente e indicando ausência de preferência populacional. O mesmo foi encontrado realizando o mesmo teste para cada um dos quatro dias (Tab. 1 do ANEXO I).

Para verificar possíveis preferências a nível de indivíduo, conduzimos testes de qui-quadrado para cada um dos animais com o tempo gasto em cada área, somados os totais dos dias do experimento controle (Tab. 6 do ANEXO I). Como esperado, todos os animais estiveram dentro da proporção de 33% de escolha para cada área.

3.3 Experimento 1: condição fotópica

3.3.1 Brilhos

No experimento fotópico de brilhos (estímulo seccionado em três áreas contendo diferentes brilhos do mesmo cinza), não foi demonstrada uma preferência populacional por qualquer área (Tab. 2 do ANEXO I). Contudo, a fim de que fosse conduzida uma análise estatística com apenas duas condições (clara e escura), somamos os dados obtidos nas duas áreas mais escuras e as transformamos em uma só, a qual deteve uma preferência populacional significativa $t(14) = -20,52$, $p=0,0001$.

Intencionando averiguar preferências individuais, realizamos um teste de qui-quadrado para cada animal com o tempo gasto em cada uma das três áreas, somados os totais dos dias. Encontramos que todos realizaram a escolha das seções do estímulo diferentemente do esperado, demonstrando preferências significativas (Tab. 7 do ANEXO I). Cinco animais preferiram a área de brilho cinza70 (peixe 2, peixe 3, peixe 4, peixe 5 e peixe 8), três preferiram a área de brilho cinza40 (peixe 1, peixe 6 e peixe 7) e nenhum preferiu a área de brilho cinza100 (Fig. 4A). Assim, tanto os peixes *bold* quanto os *shy* preferiram, individualmente, áreas mais escuras e evitaram a área mais clara,

indicando que a preferência populacional não foi significativa apenas pela variação de escolhas entre os dois brilhos mais escuros. Não observamos qualquer relação com os temperamentos dos animais.

A fim de investigar se a preferência populacional diária oscilou ao longo do experimento, realizamos testes de Kruskal-Wallis para cada um dos quatro dias, isoladamente. Encontramos que em nenhum deles houve uma única preferência definida (Tab. 2 do ANEXO I).

Ainda, observamos que, individualmente, todos os animais mostraram preferências significativas em todos os dias desse experimento (Fig. 1 do ANEXO II).

3.3.2 Cores

No experimento fotópico de cores (estímulo seccionado em três áreas com diferentes cores e brilho fixo), não houve preferência da população de Ituí-cavalo por nenhuma das áreas do estímulo (Tab. 3 do ANEXO I).

Para investigar possíveis preferências individuais, testes de qui-quadrado mostraram que sete dos oito indivíduos frequentaram as seções do estímulo diferentemente do esperado ao acaso (33% de probabilidade de escolha por área), demonstrando preferências (Tab. 8 do ANEXO I). Quatro animais preferiram a área amarelo100 (peixe 2, peixe 4, peixe 6 e peixe 8), dois preferiram a cinza65 (peixe 1 e peixe 3) e somente um (peixe 7) preferiu a área verde100 (Fig. 4B). Apenas o peixe 5 não mostrou preferência significativa para o teste, visto que as proporções de escolhas esperadas coincidiram com as observadas (Tab. 8 do ANEXO I).

Realizamos testes de preferência populacional para cada dia, mas nenhum resultado encontrado teve significância (Tab. 3 do ANEXO I). Diferentemente do observado nos resultados dos testes de brilho, nem todos os animais demonstraram preferências em cada um dos dias do teste de cor. No primeiro dia, todos os resultados foram significativos, indicando que cada sujeito possuiu uma preferência definida. Em comparação, no último dia, apenas os indivíduos *shy* demonstraram preferências, enquanto os quatro peixes *bold* se mantiveram dentro dos 33% de escolha esperados para cada área (Fig. 2 do ANEXO II).

3.4 Experimento 2: condição mesópica

3.4.1 Brilhos

Assim como no experimento da condição fotópica, não encontramos, a nível de população, qualquer significância na preferência de brilhos das três áreas para a condição mesópica (Tab. 4 do ANEXO I). Entretanto, a fim de que a análise estatística fosse realizada apenas entre área clara e área escura, somamos os dados obtidos nas duas seções mais escuras e as transformamos em uma única seção - para a qual encontramos preferência populacional significativa $t(14) = -11,7$, $p=0,0001$.

Para cada animal realizamos um teste de qui-quadrado que demonstrou preferências em todos os casos (Tab. 9 do ANEXO I). Quatro indivíduos preferiram o brilho cinza70 (peixe 1, peixe 2, peixe 4 e peixe 5) e os outros quatro, o brilho cinza40 (peixe 3, peixe 6, peixe 7 e peixe 8), sem nenhum indivíduo preferindo o brilho cinza100 (Fig. 5A). Assim como no experimento de brilhos na condição fotópica, todos os animais preferiram os brilhos mais escuros e evitaram o brilho mais claro.

Visando averiguar a preferência diária ao longo do experimento, foram realizados testes de preferência populacional para cada dia, mas nenhum resultado encontrado mostrou-se significativo (Tab. 4 do ANEXO I). Assim como observado no experimento fotópico de brilhos, todos os animais mostraram preferências individuais significativas em todos os dias desse teste, com exceção do peixe 5 no primeiro dia (peixe 5: $H(2)=0,693$, $p=0,707$) (Fig. 3 do ANEXO II).

3.4.2 Cores

Não foi encontrada qualquer preferência de cores a nível de grupo no experimento da condição mesópica (Tab. 5 do ANEXO I). Realizamos testes de qui-quadrado para o tempo total que cada sujeito gastou em cada área do substrato. Todos apresentaram resultados significativos (Tab. 10 do ANEXO I). Dois animais preferiram a área amarelo100 (peixe 1 e peixe 3), três preferiram a verde100 (peixe 2, peixe 5 e peixe 6) e os outros três, a área cinza65 (peixe 4, peixe 7 e peixe 8) (Fig. 5B). As preferências individuais distribuídas pelas três áreas não seguem um padrão definido de escolhas ou de correlações ao temperamento.

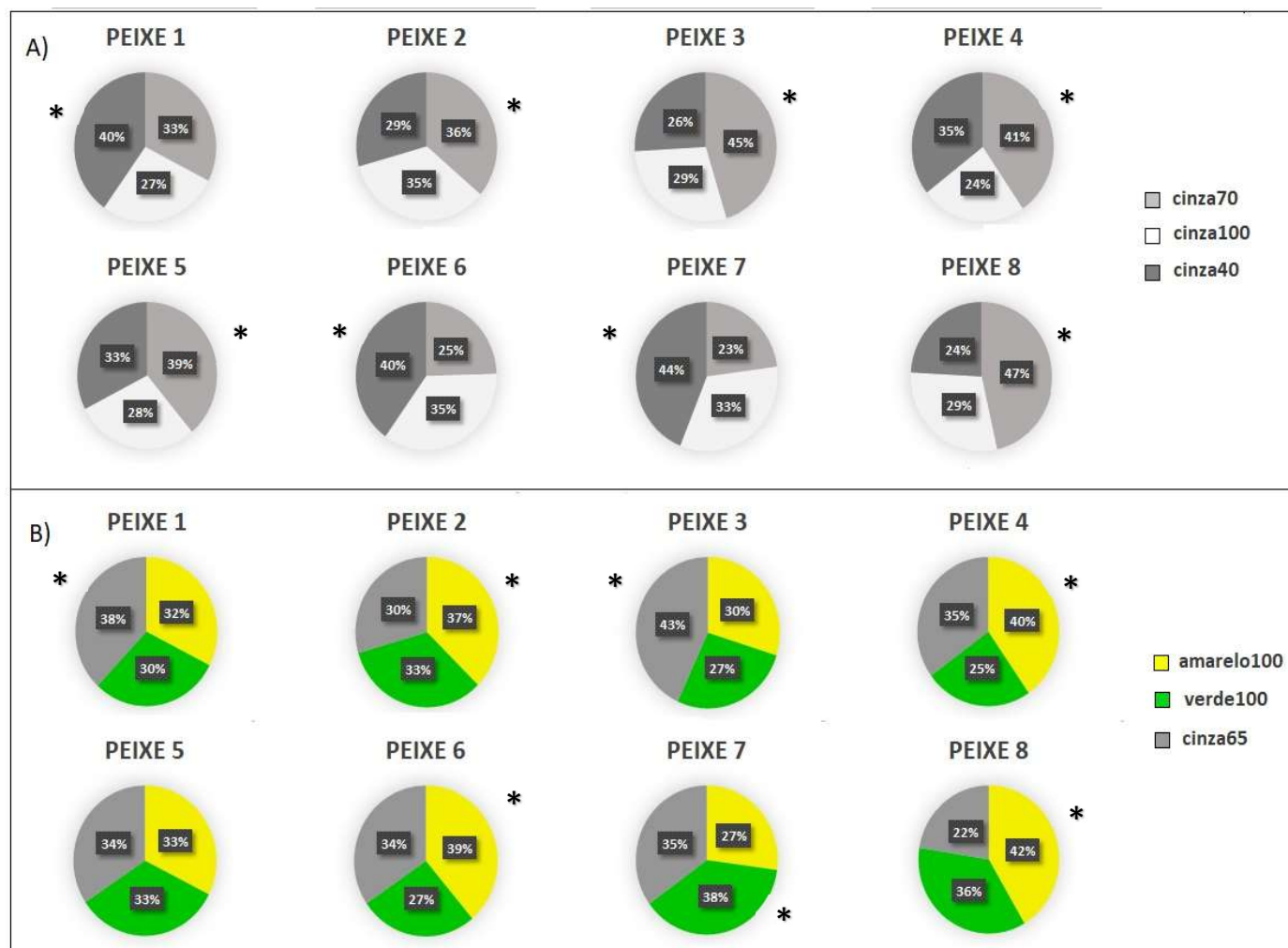


Figura 4. Preferências individuais nos testes de brilho na condição fotópica. Gráficos indicam a porcentagem de tempo total gasto em cada área do estímulo por cada animal (asteriscos indicam significância, diferindo da probabilidade de 33% de frequência esperada em cada área pelo teste de qui-quadrado). **A)** No teste de brilhos, todos os indivíduos apresentaram resultados significativos de preferência para as duas áreas mais escuras. **B)** No teste de cores, sete indivíduos obtiveram resultados significativos distribuídos pelas três cores, sem padrão de preferência definido.

Com o objetivo de verificar se a preferência oscilou ao longo do experimento, foram realizados testes de preferência populacional para cada dia, sem qualquer resultado significativo encontrado (Tab. 5 do ANEXO I).

Assim como no experimento fotópico para cores, nem todos os animais demonstraram preferências em todas as sessões desse experimento. No primeiro dia, todos os resultados foram significativos, indicando que cada um demonstrou uma preferência definida. Em contraste, considerando as preferências individuais do último dia, encontramos resultados significativos para cinco animais (peixe 1, peixe 2, peixe 4, peixe 7, e peixe 8) mas para não para três (peixes 3, 5 e 6) (Fig. 4 do ANEXO II).

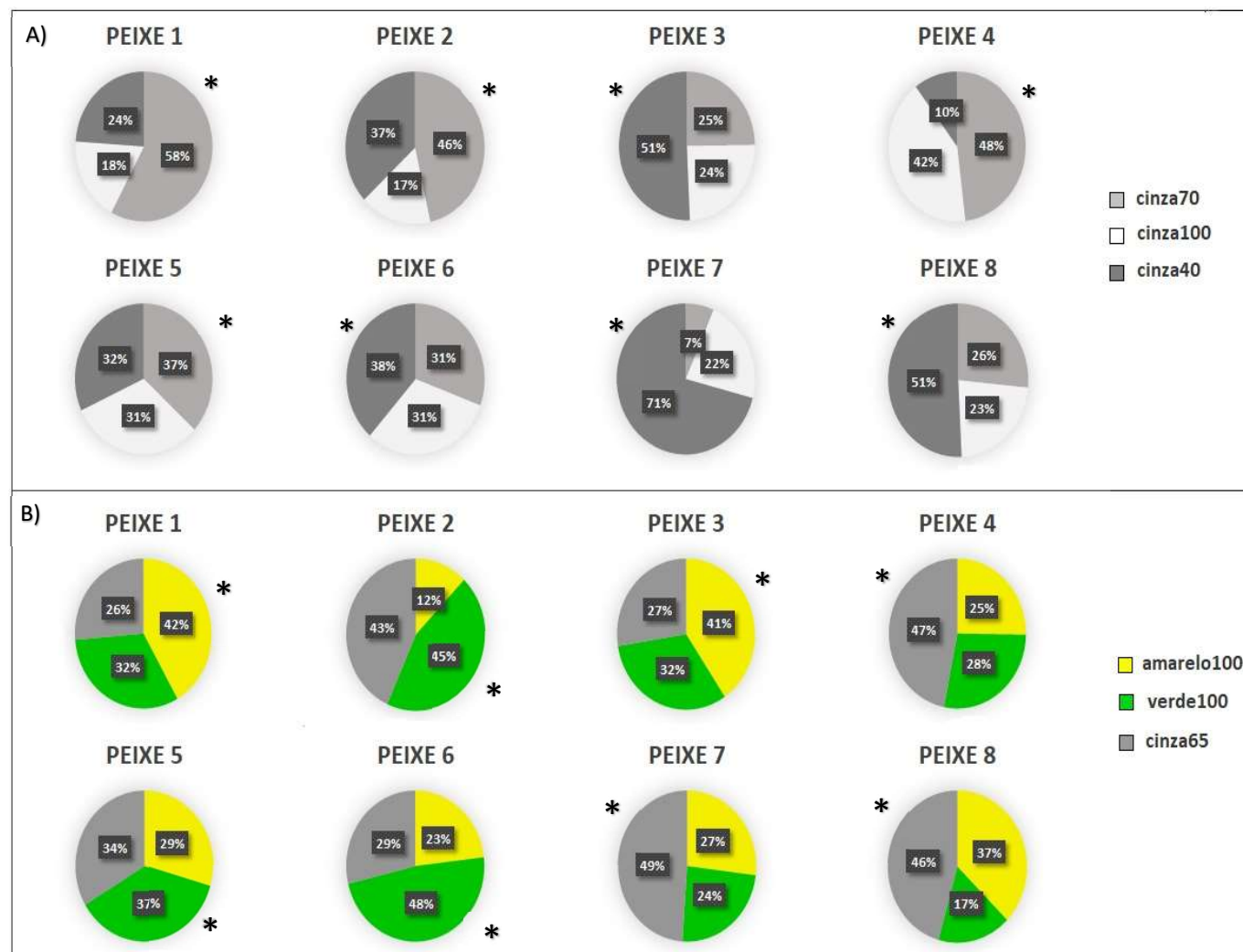
4 DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que *A. albifrons* possui, a nível de população, preferência por brilhos mais escuros e preferências variadas por cores. Isso se justifica porque, a nível de indivíduo, os animais apresentaram preferências diferentes por variadas cores de substrato.

Nos testes de brilhos, todos os peixes, independentemente de temperamento e intensidade de luz, preferiram os dois substratos mais escuros ao invés do mais claro. Sendo um animal que permanece em tocas, tanto no ambiente natural quanto em cativeiro, a constante busca por refúgios pode ser um fator determinante na preferência por substratos escuros pelo Ituí-cavalo, pois esses podem oferecer um potencial de camuflagem à cor preta de seu corpo. Assim, esse tipo de comportamento pode representar uma resposta anti-predatória e anti-estresse, como também foi observado no experimento com *Heterandria formosa* (Kjernsmo & Merilaita, 2012), em que a permanência em substratos brancos aumentava o nível de cortisol dos indivíduos em teste.

Neste estudo, sendo o animal de cativeiro, o comportamento de preferência não se deve a qualquer associação prévia que tenha sido realizada por exposição à predadores, e sim, unicamente em decorrência de uma provável resposta inata. Ainda, devido à nossa metodologia baseada apenas em escolhas espontâneas sem treinamento e recompensas, supõe-se que a preferência não considerou forrageio como principal motivação.

Figura 5. Preferências individuais nos testes de brilho na condição mesópica. Gráficos indicam a porcentagem de tempo total gasto em cada área do estímulo por cada animal (asteriscos indicam significância diferindo da probabilidade de 33% de frequência esperada em cada área pelo teste de qui-quadrado). **A)** No teste de brilhos, todos os indivíduos apresentaram resultados significativos de preferência para as duas áreas mais escuras. **B)** No teste de cores, todos os peixes demonstraram resultados significativos distribuídos pelas três cores, sem padrão de preferência definido.



É importante ressaltar que os animais preferiram os dois brilhos mais escuros, mas não elegeram o mais escuro dentre esses. Seria de se esperar que os peixes *shy* apresentassem maior frequência no substrato mais escuro, visto que esse lhes reduziria muito mais o estresse à vulnerabilidade, característico do temperamento da espécie, mas isso não foi observado. Pela mesma lógica, os peixes *bold* poderiam arriscar mais o substrato cinza pela menor aversão à exposição, o que também não ocorreu. O único resultado comum a todos os indivíduos testados é a aversão ao substrato branco mais do que uma preferência ao preto, como foi observado no comportamento de preferência de substrato no Zebrafish (*Danio rerio*) (Blaser & Peñalosa, 2011).

Nos testes de cores, todos os animais mostraram preferências individuais. Normalmente seria incitada a discussão de que a espécie possui em sua retina diferentes cones que possibilitam a comparação entre cores, justificando qualquer preferência. Todavia, essa explicação não parece condizer com as evidências fisiológicas encontradas por Liu et al. (2016), as quais sugerem que *A. albifrons* é monocromata com um único tipo de cone que absorve em longos comprimentos de onda (pico em 600 nm). Se a preferência por cores refletisse capacidade comparativa nesse animal, seria esperado que preferisse, pelo menos, a cor mais próxima de seu espectro natural de absorção, que dentre as disponibilizadas no estímulo seria a amarela (565 – 590 nm). Contudo, esse padrão não foi observado neste trabalho.

Deve-se ressaltar que o resultado do experimento de cores aparenta ter fortes reflexos dos temperamentos dos animais, verificada a evidência de que peixes *shy* exploraram menos e peixes *bold* exploraram mais. Observamos que quase a totalidade dos indivíduos *bold* não apresentou preferências no último dia de cada experimento de cor, com distribuições equivalentes nas três áreas do substrato. É possível que o caráter exploratório desses animais lhes tenha conferido uma curiosidade pelas regiões do aparato ao longo dos dias, ao passo que no último dia de experimento eles já estariam totalmente familiarizados com todas e sem demonstrar interesse. Em contraste, os indivíduos *shy*, cujos comportamentos de hesitação comprometeram uma exploração eficiente, demonstraram preferências em todos os dias experimentais, possivelmente em virtude de um processo de familiarização muito mais lento. Vale salientar que o estado de *freezing* dos peixes *shy* tomava longos períodos de teste (até mesmo uma sessão diária completa), o que certamente teve alguma influência nos resultados. Contudo, esse

comportamento não pôde ser descontado das análises, visto que o animal poderia estar exercendo sua preferência.

No presente estudo, diante da ausência de evidências precisas sobre a sensibilidade espectral de *A. albifrons*, utilizamos a evidência eletrofisiológica do Gymnotiforme, *E. virescens*, como estimativa para a realização da modelagem visual. Lind & Kelber (2009) demonstraram que o modelo RNL (Vorobyev & Osorio, 1998) permite que sejam utilizadas as sensibilidades espectrais de uma espécie para outra similar cuja sensibilidade é desconhecida. Assim, sendo a sensibilidade espectral de cones e bastonetes de *E. virescens* conhecida (600 nm e 520 nm, respectivamente), a aplicação desses dados para *A. albifrons* justificam a metodologia de modelagem visual aqui utilizada para o controle dos estímulos.

Embora pouco provável, é válido considerar a possibilidade de que os limiares de funcionamento dos bastonetes de *A. albifrons* e *E. virescens* sejam distintos, fazendo com que a intensidade de luz delineada neste estudo possivelmente não estivesse adequada para investigar a visão do Ituí-cavalo. A definição da condição fotópica em nossa metodologia utilizou uma alta intensidade de luz (800 lx) para que apenas os cones estivessem em atividade e verificássemos se a visão diurna do animal é, de fato, monocromata. Contudo, tendo o peixe escolhido diferentes cores nessa condição, é possível que seus bastonetes ainda tenham continuado ativos na intensidade de luz proposta, interagindo com cones e justificando seu comportamento discriminatório. Esse padrão foi descrito por Freitag & Pessoa (2012) para o sagui (*Callithrix jacchus*), cuja sensibilidade dos bastonetes está condicionada à uma intensidade de luz mais alta do que em humanos e em primatas do Velho Mundo. Em casos como esses, é fundamental o rigor no controle da modelagem para uma predição exata do limiar de discriminação (Lind & Kelber, 2009; Bitton et al., 2017).

É importante ressaltar que a utilização do modelo RNL é, sobretudo, eficaz para experimentações fisiológicas e comportamentais, mesmo que algumas falhas possam ser pontuadas, como sugerem Olsson et al. (2017) sobre a necessidade do conhecimento preciso dos valores de ruídos cromáticos e acromáticos no funcionamento de fotorreceptores para cálculos de distâncias acromáticas. Na presente metodologia, considerando que esses valores não são conhecidos tanto para *A. albifrons* quanto para *E. virescens*, bem como a proporção entre os tipos de fotorreceptores em suas retinas, foi assumido um valor padronizado para outras espécies em nosso cálculo. Ainda, Olsson et

al. (2017) sugerem que os limiares de JND utilizados no modelo RNL deveriam ser aplicados com maior flexibilidade às diferentes espécies, visto que o limiar de 1 assumido foi estabelecido para humanos e primatas. Dito isso, cabe considerar que os parâmetros desconhecidos para o Ituí-cavalo tenham influenciado na acurácia da modelagem visual para a espécie, possivelmente justificando a discordância entre as previsões fisiológicas e os resultados para visão de cores obtidos nesse estudo.

5 CONCLUSÃO

A interação de *A. albifrons* com substratos eletricamente isolados indica que essa espécie possui um sentido visual funcional, mesmo com estruturas oculares pouco especializadas. A capacidade de discernir entre diferentes brilhos possibilitou que os animais testados elegessem as áreas de sua preferência com clareza, independentemente de temperamentos individuais. Assim, foi constatado que o Ituí-cavalo possui preferência por substratos escuros e aversão ao claro, justificada como estratégia de redução ao estresse. Essa evidência deve contribuir não somente para o conhecimento acerca da ecologia dos Gymnotiformes, mas também para melhorias no bem-estar da espécie, a qual é amplamente utilizada em ornamentação e experimentação laboratorial, tornando importantes as adequações de substratos em seus habitats artificiais.

Ainda, os resultados encontrados nesse estudo demonstraram preferências individuais de cores, sem um padrão populacional definido, discordando da previsão sobre o caráter monocromata do Ituí-cavalo enquanto Gymnotiforme sul-americano. Contudo, é possível que o delineamento experimental tenha se deparado com um desajuste do modelo RNL utilizado. Assim, a incerteza sobre a visão de cores em *A. albifrons* exige futuras investigações ainda mais rigorosas, preferencialmente pautadas na eletrofisiologia detalhada da própria espécie, para que informações exatas sejam utilizadas no cálculo da modelagem visual necessária ao delineamento experimental.

6 REFERÊNCIAS

- Albert, J. S. (2003). Apterontidae; in *Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America*, 503-508. Porto Alegre: Edipucrs.
- Bastian, J. (1982). Vision and electroreception: integration of sensory information in the optic tectum of the weakly electric fish *Apteronotus albifrons*. *Journal of Comparative Physiology A*, 147, 287-297.
- Benimoff, N.; Schneider, S. & Hood, D. C. (1982). Interactions between rod and cone channels above threshold: A test of various models. *Vision Research*, 22, 1133-1140.
- Bitton, P. P.; Janisse, K. & Doucet, S. M. (2017). Assessing sexual dichromatism: the importance of proper parameterization in tetrachromatic visual models. *PLoS One*, 12, e0169810.
- Blackshaw, S. & Snyder, S. (1997). Parapinopsin, a novel catfish opsin localized to the parapineal organ, defines a new gene family. *Journal of Neuroscience*, 17, 8083-8092.
- Blaser, R. E. & Peñalosa, Y. M. (2011). Stimuli affecting zebrafish (*Danio rerio*) behavior in the light/dark preference test. *Physiology & Behavior*, 104, 831-837.
- Bradbury, J. W. & Vehrencamp, S. L. (1998). *Principles of Animal Communication* (2nd ed.). MA: Sinauer.
- Brown, M. E. (1957). *The physiology of fishes*: 1-453. New York: Academic Press.
- Buck, S. L.; Knight, R. F. & Bechtold, J. (2000). Opponent-color models and the influence of rod signals on the loci of unique hues. *Vision Research*, 40, 3333-3344.
- Caldwell, R. L. & H. Dingle, (1975). Ecology and evolution of agonistic behavior in stomatopods. *Naturwissenschaften*, 62, 214-222.
- Champ, C. M.; Vorobyev, M. & Marshall, N. J. (2016). Colour thresholds in a coral reef fish. *Royal. Society. open Science*, 3, 160399.

- Collett, T. S. (1992). Landmark learning and guidance in insects. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B*, 337, 295-303.
- Costa, M.; Novo, E. M. L. M. & Telm, E. R. K. (2013). Spatial and Temporal Variability of Light Attenuation in Large Rivers of the Amazon. *Freshwater Biology*, 702, 181-190.
- Cronin, T. W. (1986). Optical design and evolutionary adaptation in crustacean compound eyes. *Journal of Crustacean Biology*, 6, 1-23.
- Cronin, T. W. & Jinks, R. N. (2001). Ontogeny of vision in marine crustaceans. *American Zoology*, 41, 1098-1107.
- Dangelmayer, S.; Benda, J. & Grewe, J. (2016). Weakly electric fish learn both visual and electrosensory cues in a multisensory object discrimination task. *Journal of Physiology-Paris*, 182-189.
- Dartnall, H. J. A. (1975). Assessing the fitness of visual pigments for their photic environments. *Vision in fishes*, 543-563. New York: Plenum Press.
- Devol, A. H. & Hedges, J. I. (2001) A.H. Organic matter and nutrients in the mainstem Amazon River. *The Biogeochemistry of the Amazon Basin*, 275–306, Oxford: Oxford University Press.
- Endler, J. A. & Mielke, P. W. (2005). Comparing entire colour patterns as birds see them. *Biological journal of the Linnean Society*, 86, 405-431.
- Endler, J. A. (1978). A predator's view of animal color patterns. *Evolutionary Biology*, 11, 319-364.
- Freitag, F. B & Pessoa, D. M. A. (2012). Effect of luminosity on color discrimination of dichromatic marmosets (*Callithrix jacchus*). *Journal of the Optical Society of America A*, 29, 216-222.
- Giassi, A. C. C.; Maler, L.; Moreira, J. E. & Hoffmann, A. (2011): Glomerular nucleus of the weakly electric fish, *Gymnotus* sp.: cytoarchitecture, histochemistry, and fiber connections – insights from neuroanatomy to evolution and behavior. *Journal of Comparative Neurology*, 519, 1658-1676.

- Guthrie, D. M. (1986). The role of vision in fish behaviour. *The Behaviour of Teleost Fishes*. MA: Springer.
- Heiligenberg, W. (1973). Electrolocation of objects in the electric fish *Eigenmannia* (Rhamphichthyidae, Gymnotoidei). *Journal of Comparative Physiology*, 87, 137-164.
- Hisatomi, O. & Tokunaga, F. (2002): Molecular evolution of proteins involved in vertebrate phototransduction. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 133, 509-522.
- Johnsson, I. J. & Kallman-Eriksson, K. (2008). Cryptic prey colouration increases search time in brown trout (*Salmo trutta*): effects of learning and body size. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62, 1613-1620.
- Kawamura, G.; Bagarinao, T.; Hoo, P. K.; Justin, J. & Lm, L. S. (2017). Colour discrimination in dim light by the larvae of the African catfish *Clarias gariepinus*. *Ichthyological Research*, 64, 204-211.
- Kelber, A.; Vorobyev, M. & Osorio, D. (2003). Animal colour vision – behavioural tests and physiological concepts. *Biological Reviews*, 78, 81-118.
- Landsberger, M.; von der Emde, G.; Haverkate, D.; Schuster, S.; Gentsch, J.; Reichenbach, A.; Marakov, F. & Wagner, H. J. (2008). Dim light vision – morphological and functional adaptations of the eye of the mormyrid fish *Gnathonemus petersii*. *Journal of Physiology-Paris*, 102, 291-303.
- Lavoué, S.; Miya, M.; Arnegard, M. E.; Sullivan, J. P.; Hopkins, C. D. & Nishida, M. (2012). Comparable ages for the independent origins of electrogenesis in African and South American weakly electric fishes. *PLoS One*, 7, e36287.
- Lind, O. & Kelber, A. (2009). Avian colour vision: effects of variation in receptor sensitivity and noise data on model predictions as compared to behavioural results. *Vision Research*, 49, 1939-1947.
- Liu, D.W.; Lu, Y.; Yan, H. Y. & Zakon, H. H. (2016). South American weakly electric eish (Gymnotiformes) are long-wavelength-sensitive cone monochromats. *Brain, Behavior and Evolution*, 88, 204-212.

- Loew, E. R. & Lythgoe, J. N. (1985). The ecology of colour vision. *Endeavour*, 14, 170-174.
- Lythgoe, R. (1931). Dark-adaptation and the peripheral colour sensations of normal subjects. *British Journal of Ophthalmology*, 15, 193-210.
- Lythgoe, J. N & Partridge, J. (1989). Visual pigments and the acquisition of visual information. *Journal of Experimental Biology*, 146, 1-20.
- Maia, R. C. M.; Eliason, P. P.; Bitton, S. M.; Doucet & M. D. Shawkey. (2013). Pavo: an R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. *Methods in Ecology and Evolution*, 4, 906-913.
- Merilaita, S. (2003). Visual background complexity facilitates the evolution of camouflage. *Evolution*, 57, 1248-125.
- Misslin, R. (2003). The defense system of fear: behavior and neurocircuitry. *Clinical Neurophysiology*, 33, 55-66.
- Munk, O. (1984). Non-spherical lenses in the eyes of some deep-sea teleosts. *Arch Fisch Wis*, 34, 145-153.
- Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the world*. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Nunes, H. R. & Andreatta, E. R. (2010). Efeito da luz e aeração sobre a taxa de metamorfose de náuplios para protozoa e na qualidade das larvas de *Litopenaeus vannamei*. *Biotemas*, 23, 77-86.
- Olsson, P.; Lind, O. & Kelber, A. (2017). Chromatic and achromatic vision: parameter choice and limitations for reliable model predictions. *Behavioural Ecology*, 29, 273-282.
- Papoutsoglou, S.; Karakatsouli, N. & Chiras, G. (2005). Dietary L-tryptophan and tank colour effects on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles reared in a recirculating water system. *Aquacultural Engineering*, 32, 277-284.
- Pitcher, T. J. (1993). *Behaviour of teleost fishes* 1-740. London: Chapman & Hall.
- Rabbani, A. G. & Zeng, C. (2005). Effects of tank colour on larval survival and development of mud crab *Scylla serrata* (Forska l). *Aquaculture Research*, 36, 1112-1119.

- Rotllant, J.; Tort, L.; Montero, D.; Pavlidis, M.; Martinez, M.; Wendelaar Bonga, S.E. & Balm, P. H. M., (2003). Background colour influence on the stress response in cultured red porgy *Pagrus pagrus*. *Aquaculture* 223, 129-139.
- Sandkam, B. A.; Young, C. M; Breden, F. M. W; Bourne, G. R. & Breden, F. (2015). Color vision varies more among populations than among species of live-bearing fish from South America. *BMC Evolutionary Biology*, 15, 225.
- Schaefer, H. M; Schaefer, V & Vorobyev, M. (2007). Are fruit colors adapted to consumer vision and birds equally efficient in detecting colorful signals? *The American Naturalist*. 169, 159-169.
- Schumacher, S.; Perera, T. B & von der Emde, G. (2017). Electrosensory capture during multisensory discrimination of nearby objects in the weakly electric fish *Gnathonemus petersii*. *Scientific Reports*, 7, Article: 43665.
- Siebeck, U. E.; Wallis, G. M. & Litherland, L. (2008). Colour vision in coral reef fish. *Journal of Experimental Biology*, 211, 354-360.
- Sioli, H. (1950). Das wasser im Amazonasgebiet. *Forsch Fortschr.* 26, 274-280.
- Sivak, J. G. (1978). Optical characteristics of the eye of the spiny dogfish (*Squalus acanthias*). *Revue Canadienne de Biologie*, 37, 209-217.
- Sperling, H. G. & Harwerth, R. S. (1971). Red-green cone interactions in the increment-threshold spectral sensitivity of primates. *Science*, 172, 180-184.
- Spottiswoode, C. N & Stevens, M. (2010). Visual modeling shows that avian host parents use multiple visual cues in rejecting parasitic eggs. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 107, 8672-8676.
- Stuart-Fox, D. M. & Ord, T. J. (2004). Sexual selection, natural selection and the evolution of dimorphic coloration and ornamentation in agamid lizards. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 271, 2249-2255.

- Stuart-Fox, D. M; Moussalli, A.; Johnston, G. R & Owens, I. P. F. (2004). Evolution of color variation in dragon lizards: quantitative tests of the role of crypsis and local adaption. *Evolution*, 58, 1549-1559.
- Takiyama, T.; Luna da Silva, V.; Moura Silva, D.; Hamasaki, S. & Yoshida, M. (2015). Visual capability of the weakly electric fish *Apteronotus albifrons* as revealed by a modified retinal flatmount method. *Brain, Behavior and Evolution*, 86, 122-130.
- Tyler, J. E. (1959). Natural water as a monochromator. *Limnology and Oceanography*, 4, 102-105.
- Vorobyev, M. & Osorio, D. (1998). Receptor noise as a determinant of colour thresholds. *Proceedings of the Royal Society B*, 265, 351-358.
- Vorobyev, M.; Marshall, N. J; Hempel de Ibarra, N. & Menzel, R. (2001). Colorful objects through animal eyes. *Color Research & Application*, 26, 214-217.
- Vorobyev, M.; Osorio, D.; Bennett, A. T.; Marshall, N. J. & Cuthill, I. C. (1998). Tetrachromacy, oil droplets and bird plumage colours. *Journal of Comparative Physiology A*, 183, 621-633.
- Walker, I. (1990). Ecologia e biologia dos igapós e igarapés. *Ciência Hoje*, 11, 44-53.
- Wehner, R., (2003). Desert ant navigation: how miniature brains solve complex tasks. *Journal of Comparative Physiology A*. 189, 579-588.
- Wheeler, T. G., (1982). Color vision and retinal chromatic information processing in teleost: a review. *Brain Research Review*, 4, 177-235.
- Wilson, D. S; Clark, A. B.; Coleman, K. & Dearstyne, T. (1994). Shyness and boldness in humans and other animals. *Trends in Ecology & Evolution*, 9, 442-446.
- Yokoyama, S. (2000). Molecular evolution of vertebrate visual pigments. *Progress in Retinal and Eye Research*, 19, 385-419.
- Yokoyama, S. (2002). Molecular evolution of color vision in vertebrates. *Gene*, 300, 69.

ANEXO I

Valores de teste de Kruskal-Wallis (H) para preferência populacional ($df = 2$, $p < 0,05$).

Experimento controle			
Dia	H	N	Signif. (p)
Dia 1	0,16	24	0,92
Dia 2	9,43	24	0,09
Dia 3	0,64	24	0,72
Dia 4	2,28	24	0,31
Geral	3,05	96	0,21

Tabela 1. Valores de testes de Kruskal-Wallis para o somatório do tempo que a população de Ituí-cavalo passou em cada área do estímulo 1 por dia e ao fim dos 4 dias (geral) no experimento controle.

Experimento fotópico de brilhos			
Dia	H	N	Signif. (p)
Dia 1	0,50	24	0,61
Dia 2	3,32	24	0,07
Dia 3	1,38	24	0,50
Dia 4	4,73	24	0,09
Geral	2,66	96	0,27

Tabela 2. Valores de testes de Kruskal-Wallis para o somatório do tempo que a população de Ituí-cavalo passou em cada área do estímulo 2 por dia e ao fim dos 4 dias (geral) no experimento fotópico de brilhos.

Experimento fotópico de cores			
Dia	H	N	Signif. (p)
Dia 1	3,60	24	0,16
Dia 2	0,56	24	0,75
Dia 3	0,37	24	0,82
Dia 4	3,90	24	0,14
Geral	3,75	96	0,15

Tabela 3. Valores de testes de Kruskal-Wallis para o somatório do tempo que a população de Ituí-cavalo passou em cada área do estímulo 3 por dia e ao fim dos 4 dias (geral) no experimento fotópico de cores.

Experimento mesópico de brilhos

Dia	H	N	Signif. (p)
Dia 1	1,45	24	0,48
Dia 2	0,96	24	0,61
Dia 3	4,13	24	0,10
Dia 4	3,61	24	0,16
Geral	2,98	96	0,22

Tabela 4. Valores de testes de Kruskal-Wallis para o somatório do tempo que a população de Ituí-cavalo passou em cada área do estímulo 2 por dia e ao fim dos 4 dias (geral) no experimento mesópico de brilhos.

Experimento mesópico de cores

Dia	H	N	Signif. (p)
Dia 1	0,80	24	0,66
Dia 2	0,42	24	0,81
Dia 3	1,73	24	0,42
Dia 4	3,52	24	0,17
Geral	0,70	96	0,70

Tabela 5. Valores de testes de Kruskal-Wallis para o somatório do tempo que a população de Ituí-cavalo passou em cada área do estímulo 3 por dia e ao fim dos 4 dias (geral) no experimento mesópico de cores.

Valores de Qui-quadrado para preferência individual (N esperado = 2400, $df = 2$, $p < 0,05$).

Experimento controle

Indivíduo	X ²	Signif. (p)
Peixe 1	5,78	0,05
Peixe 2	0,16	0,92
Peixe 3	0,26	0,87
Peixe 4	0,56	0,75
Peixe 5	3,26	0,19
Peixe 6	0,23	0,89
Peixe 7	2,34	0,30
Peixe 8	3,18	0,20

Tabela 6. Valores de testes de Qui-quadrado para o total de tempo que cada indivíduo de Ituí-cavalo passou nas três áreas do estímulo 1 (controle).

Experimento fotópico de brilhos

Indivíduo	X ²	Signif. (p)
Peixe 1	179,2	0,0001
Peixe 2	59,3	0,0001
Peixe 3	472,6	0,0001
Peixe 4	308,7	0,0001
Peixe 5	120	0,0001
Peixe 6	275,7	0,0001
Peixe 7	863	0,0001
Peixe 8	593	0,0001

Tabela 7. Valores de testes de Qui-quadrado para o total de tempo que cada indivíduo de Ituí-cavalo passou nas três áreas do estímulo 2 no experimento fotópico de brilhos.

Experimento fotópico de cores

Indivíduo	X ²	Signif. (p)
Peixe 1	632,3	0,0001
Peixe 2	67,5	0,0001
Peixe 3	180,8	0,0001
Peixe 4	278	0,0001
Peixe 5	3,9	0,14
Peixe 6	26,1	0,0001
Peixe 7	76,4	0,0001
Peixe 8	416,7	0,0001

Tabela 8. Valores de testes de Qui-quadrado para o total de tempo que cada indivíduo de Ituí-cavalo passou nas três áreas do estímulo 3 no experimento fotópico de cores.

Experimento mesópico de brilhos

Indivíduo	X ²	Signif. (p)
Peixe 1	1984,4	0,0001
Peixe 2	1011,1	0,0001
Peixe 3	976,6	0,0001
Peixe 4	1761,8	0,0001
Peixe 5	40,2	0,0001
Peixe 6	85,6	0,0001
Peixe 7	4904,2	0,0001
Peixe 8	1002	0,0001

Tabela 9. Valores de testes de Qui-quadrado para o total de tempo que cada indivíduo de Ituí-cavalo passou nas três áreas do estímulo 2 no experimento mesópico de brilhos.

Experimento mesópico de cores		
Indivíduo	X ²	Signif. (p)
Peixe 1	263,1	0,0001
Peixe 2	1452,6	0,0001
Peixe 3	189,1	0,0001
Peixe 4	598,2	0,0001
Peixe 5	62	0,0001
Peixe 6	740,4	0,0001
Peixe 7	792,3	0,0001
Peixe 8	932	0,0001

Tabela 10. Valores de testes de Qui-quadrado para o total de tempo que cada indivíduo de Ituí-cavalo passou nas três áreas do estímulo 3 no experimento mesópico de cores.

ANEXO II

Figura 1. Preferências individuais totais por dia nos testes de brilho na condição fotópica. Gráficos indicam a porcentagem de tempo total gasto em cada área do estímulo por cada animal, a cada dia (asteriscos indicam significância, diferindo da probabilidade de 33% de frequência esperada em cada área pelo teste de qui-quadrado). Ainda, referencia-se temperamento (*shy/bold*) e tamanho aproximado de cada peixe.



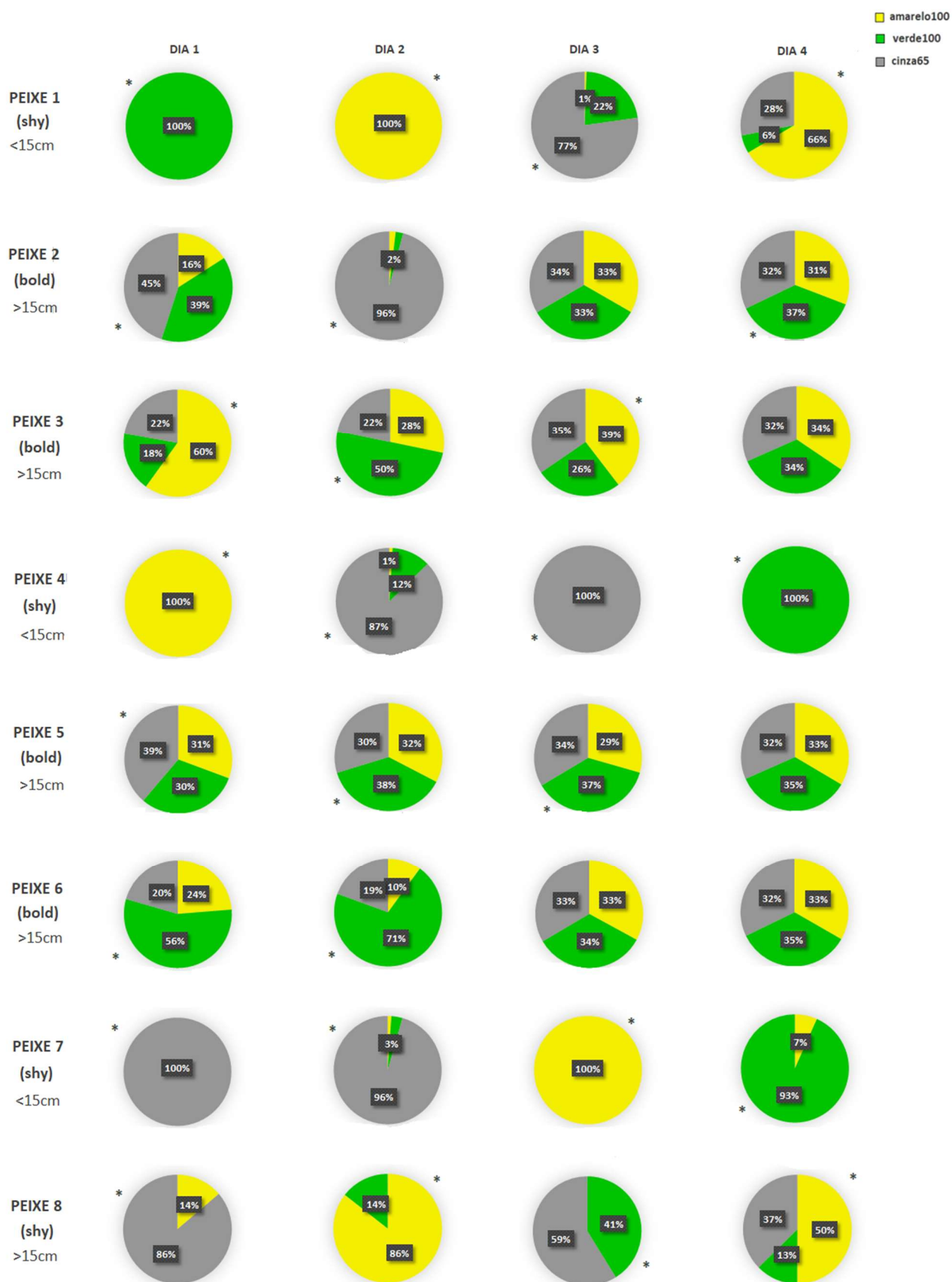
Figura 2. Preferências individuais totais por dia nos testes de cor na condição fotópica. Gráficos indicam a porcentagem de tempo total gasto em cada área do estímulo por cada animal, a cada dia (asteriscos indicam significância, diferindo da probabilidade de 33% de frequência esperada em cada área pelo teste de qui-quadrado). Ainda, referencia-se temperamento (*shy/bold*) e tamanho aproximado de cada peixe.



Figura 3. Preferências individuais totais por dia nos testes de brilho na condição mesópica. Gráficos indicam a porcentagem de tempo total gasto em cada área do estímulo por cada animal, a cada dia (asteriscos indicam significância, diferindo da probabilidade de 33% de frequência esperada em cada área pelo teste de qui-quadrado). Ainda, referencia-se temperamento (*shy/bold*) e tamanho aproximado de cada peixe.



Figura 4. Preferências individuais totais por dia nos testes de cor na condição mesópica. Gráficos indicam a porcentagem de tempo total gasto em cada área do estímulo por cada animal, a cada dia (asteriscos indicam significância, diferindo da probabilidade de 33% de frequência esperada em cada área pelo teste de qui-quadrado). Ainda, referencia-se temperamento (*shy/bold*) e tamanho aproximado de cada peixe.



ANEXO III



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

Av. Salgado Filho, S/N – CEP: 59072-970 – Natal / RN
Fone: (84) 9229-6491 / e-mail: ceua@reitoria.ufrn.br



CERTIFICADO

Natal (RN), 04 de setembro de 2017.

Certificamos que a proposta intitulada “**Reconhecimento de objetos pelo peixe elétrico Ituí-cavalo (*Apteronotus albifrons*)**”, PARECER nº 036.023/2017, sob a responsabilidade de **Daniel Marques de Almeida Pessoa**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.º 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado, após adequações, pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – CEUA/UFRN.

Vigência do Projeto	MAIO 2018
RELATÓRIO	Junho 2018
Espécie/Linhagem	Peixe Ituí-cavalo
Número de Animais	8
Idade/Peso	1 ano / 100g
Sexo	4 Machos + 4 Fêmeas
Origem	Loja Pirangi Aquarius, Natal/RN
Manutenção	Biotério do Centro de Biociências – UFRN

Informamos ainda que, segundo o Cap. 2, Art. 13, do Regimento Interno desta CEUA, é função do professor/pesquisador responsável pelo projeto a **elaboração de relatório** de acompanhamento que deverá ser entregue tão logo a pesquisa seja concluída. **O descumprimento desta norma inviabilizará a submissão de projetos futuros.**


José de Castro Souza Neto Júnior
Coordenador da CEUA-UFRN



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

Av. Salgado Filho, S/N – CEP: 59072-970 – Natal / RN
Fone: (84) 9229-6491 / e-mail: ceua@reitoria.ufrn.br




CERTIFICADO

Natal (RN), 27 de fevereiro de 2018.

Certificamos que o ADENDO da proposta intitulada “**Reconhecimento de objetos pelo peixe elétrico Ituí-cavalo (*Apteronotus albifrons*)**”, protocolo 023/2017, sob a responsabilidade de **Daniel Marque de Almeida Pessoa** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.º 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – CEUA/UFRN.

MOTIVO	Extensão de prazo para inclusão de novo experimento (preferência de cores)
Vigência do Projeto	JULHO 2019
RELATÓRIO	AGOSTO 2019
Observações	<i>Não utilizará novos animais</i> <i>NOVO TÍTULO: Preferência de cores e Reconhecimento de objetos no peixe elétrico Ituí-cavalo (<i>Apteronotus albifrons</i>)</i>

Informamos ainda que, segundo o Cap. 2, Art. 13, do Regimento Interno desta CEUA, é função do professor/pesquisador responsável pelo projeto a **elaboração de relatório** de acompanhamento que deverá ser entregue tão logo a pesquisa seja concluída. **O descumprimento desta norma poderá inviabilizar a submissão de projetos futuros.**


José de Castro Souza Neto Júnior
Coordenador da CEUA-UFRN